

桑天牛卵啮小蜂雌蜂对茉莉酸诱导的桑枝挥发物的触角电位和嗅觉反应

王 薇¹, 李继泉^{1,2,*}, 崔建州^{1,2}, 李增良³, 张 情¹, 田红雨¹, 唐 哲¹

(1. 河北农业大学林学院, 河北保定 071000; 2. 河北省林木种质资源和森林保护重点实验室, 河北保定 071000; 3. 河北省林果桑花质量监督检验管理中心, 石家庄 050081)

摘要:【目的】明确桑天牛卵啮小蜂 *Aprostocetus prolixus* 雌蜂对茉莉酸诱导的桑 *Morus alba* 枝挥发物的触角电位和嗅觉反应, 有利于揭示茉莉酸诱导桑枝产生间接抗性的化学机制。【方法】采用动态顶空气体法收集茉莉酸处理后的桑枝挥发物, 分别通过气相色谱-触角电位联用仪(GC-EAD)和气相色谱/质谱联用仪(GC/MS)筛选和鉴定对桑天牛卵啮小蜂雌蜂有 EAD 活性的化合物, 并比较这些活性组分的释放速率在茉莉酸处理桑枝与蒸馏水处理的对照桑枝间的差异, 最后利用 Y-型嗅觉测定仪明确对该寄生蜂有引诱活性的组分。【结果】桑枝经茉莉酸处理后, 其挥发物中的 Z-3-己烯醇、 γ -萜品烯、 β -水芹烯、紫苏烯、水杨酸甲酯及 3 种未知化合物使桑天牛卵啮小蜂雌蜂产生明显的 EAD 反应, 并且 β -水芹烯、紫苏烯和水杨酸甲酯的释放量明显高于对照, 其中 β -水芹烯和紫苏烯仅存在于茉莉酸处理后桑枝的挥发物中, 而 Z-3-己烯醇的释放速率与对照无显著差异。0.1% β -水芹烯、0.1% 紫苏烯以及 0.01% 和 0.001% 水杨酸甲酯对该蜂雌蜂具有显著的引诱作用。【结论】结果提示, 茉莉酸促进桑枝大量释放 β -水芹烯、紫苏烯和水杨酸甲酯, 是茉莉酸诱导桑树对桑天牛产生间接抗性的重要机制。

关键词: 桑天牛卵啮小蜂; 桑枝; 外源茉莉酸; 挥发物; 触角电位反应; 嗅觉反应

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2017)09-1013-08

Electroantennographic and olfactory responses of female wasps of *Aprostocetus prolixus* (Hymenoptera: Eulophidae) to volatiles from *Morus alba* branches induced by jasmonic acid

WANG Wei¹, LI Ji-Quan^{1,2,*}, CUI Jian-Zhou^{1,2}, LI Zeng-Liang³, ZHANG Qing¹, TIAN Hong-Yu¹, TANG Zhe¹ (1. College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000, China; 2. Key Laboratory of Genetic Resources of Forest and Forest Protection of Hebei Province, Baoding, Hebei 071000, China; 3. Center for Quality Supervision and Test of Forestry Fruit, Mulberry and Flower of Hebei Province, Shijiazhuang 050081, China)

Abstract: 【Aim】 This study aims to clarify the electroantennographic and olfactory responses of female wasps of the eulophid *Aprostocetus prolixus* to volatiles of *Morus alba* branches induced by jasmonic acid (JA), so as to reveal the chemical mechanisms of indirect resistance in *M. alba* branches against *Apriona germari*. 【Methods】 The volatiles from *M. alba* branches treated with JA were collected by using the dynamic headspace volatile collection method. The electroantennographically active compounds for female wasps of *A. prolixus* were screened and indentified by coupled gas chromatography-electroantennographic detector (GC-EAD) and GC/MS, respectively, and the differences in emission rates of the EAD-active components between the JA-treated *M. alba* branches and the water-treated control branches were also compared. Furthermore, the volatile compounds attractive to female *A.*

基金项目: 河北省自然科学基金项目(C2014204049)

作者简介: 王薇, 女, 1992 年生, 河北保定人, 硕士研究生, 研究方向为化学生态学, E-mail: bdwbs@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: lijqbd@163.com

收稿日期 Received: 2017-04-15; 接受日期 Accepted: 2017-08-03

prolixus were determined by Y-tube olfactometer. 【Results】 The results demonstrated that *Z*-3-hexenol, β -terpinene, β -phallandrene, perillene, methyl salicylate and other three unknown chemicals from *M. alba* branches treated with JA elicited significant GC-EAD responses in female wasps of *A. prolixus*. The emission rates of β -phallandrene, perillene and methyl salicylate from the JA-treated *M. alba* branches were significantly higher than those from the control branches. Furthermore, β -phallandrene and perillene were detected only in the volatiles of the JA-treated plants. However, there was no significant difference in the emission rate of *Z*-3-hexenol between the JA-treated plants and the control plants. And 0.1% β -phallandrene, 0.1% perillene and 0.01% and 0.001% methyl salicylate were significantly attractive to female wasps of *A. prolixus*. 【Conclusion】 The results suggest that highly elevated emission of β -phallandrene, perillene and methyl salicylate from the JA-treated *M. alba* branches is one of the important mechanisms of the JA-induced indirect resistance in *M. alba* tree against *A. germari*.

Key words: *Aprostocetus prolixus*; *Morus alba*; exogenous jasmonic acid; volatiles; electroantennographic response; olfactory response

茉莉酸(jasmonic acid, JA)是一类广泛存在于植物体内的信号传递物质,无论是内源还是外源JA,都在诱导植物产生防御反应的过程中起到重要的调节作用(Singh *et al.*, 2016; 王薇等, 2016)。研究表明,外源JA可以诱导植物大量释放挥发性化合物,提高植物对寄生性或捕食性天敌的引诱率,进而使植物达到间接防御的目的(Bruinsma *et al.*, 2009; Wei *et al.*, 2011)。例如,抱子甘蓝 *Brassica oleracea*. var. *gemmifera* Zenker 经JA处理后,其挥发物的释放量均明显升高,并诱导出了17种组分(Burinsma *et al.*, 2009)。气相色谱-触角电位联用仪(GC-EAD)分析发现,组分中的*E*-2-己烯醛、*Z*-3-己烯醇、*Z*-乙酸-2-戊烯酯、*Z*-乙酸-3-己烯酯、柠檬烯、苯乙腈和水杨酸甲酯对粉蝶盘绒茧蜂 *Cotesia glomerata* 具有EAD活性(Smid *et al.*, 2002)。嗅觉测定结果表明,*E*-2-己烯醛和*Z*-乙酸-3-己烯酯对该寄生蜂有显著的引诱作用(Shiojiri *et al.*, 2006)。

桑天牛 *Apriona germari* 是我国重要的蛀干害虫,危害多种果树和林木,严重影响了生态效益和经济效益。近年来,针对桑天牛的防治方法效率低,效果不理想。桑天牛卵啮小蜂 *Aprostocetus prolixus* 是桑天牛卵期重要的寄生性天敌,自然条件下具有较高的寄生率(黄大庄, 2015)。研究表明,外源JA通过改变桑枝挥发物的化学指纹图谱增强桑枝对桑天牛卵啮小蜂的引诱活性(王薇等, 2016)。但外源JA处理后,桑枝挥发物中的哪些组分对桑天牛卵啮小蜂具有引诱活性,目前尚无文献报道。鉴于此,本试验采用动态顶空气体法收集茉莉酸处理桑枝及对照桑枝的挥发物,通过气相色谱-触角电位联用仪(GC-EAD)和气相色谱-质谱联用仪(GC/MS)筛选对桑天牛卵啮小蜂嗅觉有刺激活性的组分,并利用

Y-型嗅觉测定仪明确对该寄生蜂有引诱作用的化合物及其有效浓度,进而为揭示JA诱导桑树对桑天牛产生间接防御的化学机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试植物

四年生健康桑树 *Morus alba* 植株,种植于20 L塑料桶内。植株的管理及修剪方法参照李继泉等(2007a)的方法。

1.2 供试昆虫

春季桑枝抽叶前,于河北农业大学标本园内,采集含有完整桑天牛刻槽的桑枝,带回实验室后剪成3 cm的枝段(含刻槽)并放入三角瓶中,于人工气候箱内进行培养。培养条件为白天温度 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,夜间温度 $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,光周期为16L:8D,相对湿度 $60\% \pm 5\%$ 。寄生蜂羽化后立即被转入另一个洁净的三角瓶中,并饲喂浓度为20%的蜂蜜水(李继泉等, 2006)。使用经过交尾但未产卵的雌蜂为供试昆虫。

1.3 桑枝挥发物的收集与分析

1.3.1 桑枝处理: 首先利用少许无水乙醇将JA(Sigma, $\geq 97\%$)溶解,再用蒸馏水稀释成浓度为1 mmol/L的JA水溶液。在健康桑树上选取1根粗细较均匀的桑枝($\Phi \approx 1.5$ cm, $L > 70$ cm),枝条中段用单面刀片沿纵轴切除1 cm \times 5 cm的枝皮后,用刀片尖端轻划木质部以模拟桑天牛取食,快速将少量脱脂棉覆盖其上并用塑料条(宽1.5 cm)将枝条包扎好,然后用注射器将1 mL浓度为1 mmol/L的JA溶液注入到已包扎好的脱脂棉内,并开始计时。以注入1 mL蒸馏水的桑枝为对照(冯会藏等, 2009)。

1.3.2 挥发物收集: 处理 48 h 后, 以 Porapak Q (80 ~ 100 目, 50 mg) 为吸附剂, 采用动态顶空气体采气法, 同时收集不同处理桑枝的挥发物, 气体流量为 1 L/min (王薇等, 2016)。8 h 后结束挥发物收集, 用 300 μ L 二氯甲烷 (色谱纯) 淋洗吸附剂, 淋洗液接入样品瓶内, 然后加入 10 μ L 含正辛烷 (>99.5%, 东京化学工业有限公司) 和乙酸壬酯 (99%, Sigma) 各 300 ng 的二氯甲烷溶液作为内标 (桑枝挥发物中不含这 2 种内标化合物), 充分混匀后放入 -20℃ 的冰箱内备用。最后将作为气味源的叶片烘干、称重。每个处理重复 3 次。

1.3.3 GC-EAD 分析: 利用 GC-EAD 分析桑枝挥发物中能使桑天牛卵啮小蜂触角产生电位反应的组分。该系统由配有火焰离子化检测器 (FID) 的气相色谱 (Agilent 7890A, 美国) 和触角电位仪 (EAD) (Syntech 公司, 德国) 组成。气相色谱的进样量为 2.5 μ L, 不分流进样, 进样口温度 250℃, 载气为流量 1 mL/min 的氮气, 检测器温度 300℃, 色谱柱 HP-5MS (30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m)。色谱柱末端的气体流向 FID 和 EAD 的比例为 1:4。升温程序: 初始温度 40℃, 恒温 3 min, 以 8℃/min 的速度升温至 90℃, 再以 2℃/min 的速度升至 108℃, 然后以 6℃/min 的速度升至 170℃, 最后以 15℃/min 的速度升至 220℃, 并以 250℃ 后运行 5 min。

触角电位信号的检测由微动操作台 (MP-15) 以及上面固定的毛细管玻璃电极 (装有 Ringer 电极缓冲液, 含 0.02% 的 Triton X-100)、信号采集系统 (IDAC-2) 和刺激气味控制器 (CS-55) 完成。将桑天牛卵啮小蜂雌蜂置于 5℃ 冰箱内冷藏 30 min 后, 用刀片将带有完整触角的头部切下, 在体式显微镜下, 去掉一根触角端部的角质层, 通过微动操作仪 (Syntech 公司, 德国) 将记录电极套在该触角的顶端, 参考电极通过颈部插入到昆虫头部。经活性炭过滤并被加湿的持续气流, 将通过 GC 内部毛细管分流阀分流的样品, 通过一个玻璃管吹向触角, 其流速为 250 mL/min。通过 IDAC-2 采集数据, 使用 GC-EAD 软件 (1.2.5 版, Syntech 公司) 分析 FID 和 EAD 信号。

1.3.4 GC/MS 分析: 利用 GC/MS (Agilent, GC 7890A, MS 5975C) 对挥发物中具有 EAD 活性的组分进行定性定量分析。进样量 0.5 μ L, 溶剂延迟 3 min, 以氦气为载气, 流速为 0.9 mL/min, 色谱柱 HP-5MS (30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m), 升温程序同 1.3.3 节的方法, 离子源温度 230℃, 接口温度

250℃, 检测器电压 350 V, 电子轰击电压 70 eV, 质量扫描范围 29 ~ 540。

依据各组分与 NIST 标准谱图的匹配度, 以及各组分与标准化合物在 GC/MS 和 GC-EAD 中保留时间的一致性, 明确对寄生蜂具有 EAD 活性的化合物, 从而筛选出 JA 处理桑枝挥发物中对桑天牛卵啮小蜂有刺激活性的组分, 并通过内标法对这些化合物进行定量分析。

1.4 嗅觉反应测定

以正己烷 (色谱纯) 为溶剂, 将筛选出的具有 EAD 活性的标准化合物 (Z-3-己烯醇, 98%, Sigma-Aldrich 股份公司; γ -萜品烯, 95.5%, 东京化学工业有限公司; β -水芹烯, 99%, 多伦多研究化学品公司; 紫苏烯, 98.9%, 中国食品药品检定研究院; 水杨酸甲酯, \geq 99%, Sigma-Aldrich 股份公司) 配制成浓度分别为 0.001%, 0.01% 和 0.1% 的刺激样品。利用 Y-型嗅觉测定仪测定其对桑天牛卵啮小蜂的引诱活性, 将含有 10 μ L 刺激样品的滤纸条放入嗅觉测定仪的某一测试臂中, 将含有相同体积正己烷的滤纸条放入另一测试臂中作为对照。经活性炭过滤和蒸馏水加湿后的空气, 被分为流速相同的 2 股气流 (100 mL/min), 分别进入两个测试臂, 汇集于主臂后进入大气中。然后将 1 头寄生蜂放入测定仪的主臂, 观察并记录其对两个测试臂的选择情况。如果寄生蜂在 10 min 内没有作出选择, 则记为无反应, 每头寄生蜂在所有实验中只使用一次。具体参照李继泉等 (2007b) 的方法。

1.5 数据分析

测试数据以平均值 \pm 标准差表示; 利用 χ^2 检验分析桑天牛卵啮小蜂的嗅觉反应数据, 通过 t -检验比较 JA 处理桑枝和对照桑枝挥发性活性组分释放速率间的差异。

2 结果

2.1 桑天牛卵啮小蜂对 JA 处理桑枝挥发物的 GC-EAD 反应

GC-EAD 分析结果表明, 桑天牛卵啮小蜂对测试溶液中的 9 种化合物产生明显的 EAD 反应 (图 1)。经 GC/MS 分析发现, 其中 6 种化合物分别为正辛烷 (内标)、Z-3-己烯醇、 γ -萜品烯、 β -水芹烯、紫苏烯和水杨酸甲酯, 另外 3 种化合物未出现在 GC/MS 的总离子流图中, 未能对其进行定性和定量分析。

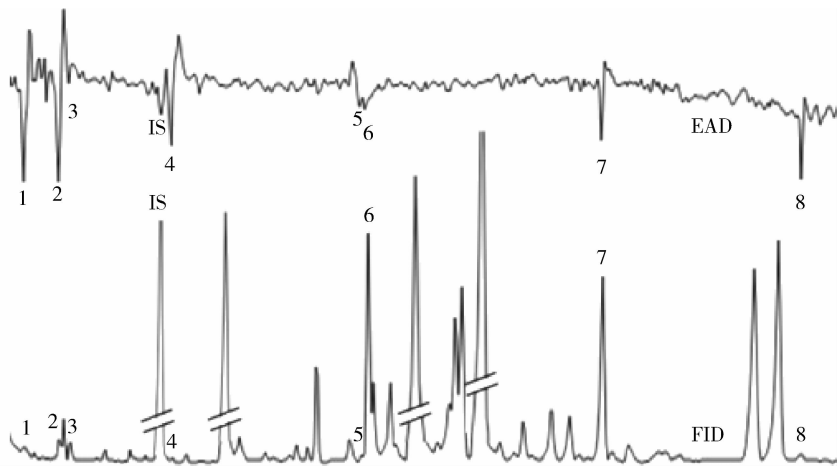


图 1 桑天牛卵啮小蜂雌蜂对 1 000 $\mu\text{mol/L}$ JA 处理桑枝挥发物的 GC-EAD 反应
Fig. 1 GC-EAD responses of female wasps of *Aprostocetus prolixus*
to volatiles from *Morus alba* branches treated with 1 000 $\mu\text{mol/L}$ JA

1: 未知化合物 1 Unknown chemical 1; 2: 未知化合物 2 Unknown chemical 2; 3: 未知化合物 3 Unknown chemical 3; 4: Z-3-己烯醇 Z-3-Hexenol; 5: γ -萜品烯 γ -Terpinene; 6: β -水芹烯 β -Phallandrene; 7: 紫苏烯 Perillene; 8: 水杨酸甲酯 Methyl salicylate; IS: 正辛烷 (内标) *n*-Octane (internal standard).

桑天牛卵啮小蜂对不同化合物的 EAD 反应强度存在差异。与其他化合物相比,未知化合物 1、未知化合物 2 和水杨酸甲酯的释放量很低,但该寄生蜂对这 3 种物质的 EAD 反应最强,对 Z-3-己烯醇和

紫苏烯的反应次之,对未知化合物 3、 γ -萜品烯和 β -水芹烯的反应最弱(表 1)。值得注意的是,正辛烷(内标化合物)对该寄生蜂也具有较弱的刺激作用(图 1)。

表 1 桑天牛卵啮小蜂雌蜂对 1 000 $\mu\text{mol/L}$ JA 处理后的桑枝挥发物的 GC-EAD 反应
Table 1 GC-EAD responses of female wasps of *Aprostocetus prolixus* to the
volatiles of *Morus alba* branches treated with 1 000 $\mu\text{mol/L}$ JA

保留时间 (min) Retention time	化合物 Chemicals	EAD 活性 (mV) EAD activity
4.39	未知化合物 1 Unknown chemical 1	-0.29 ± 0.11
4.81	未知化合物 2 Unknown chemical 2	-0.26 ± 0.12
5.04	未知化合物 3 Unknown chemical 3	-0.03 ± 0.02
6.97	Z-3-己烯醇 Z-3-Hexenol	-0.15 ± 0.06
10.30	γ -萜品烯 γ -Terpinene	-0.05 ± 0.03
10.42	β -水芹烯 β -Phallandrene	-0.07 ± 0.03
14.58	紫苏烯 Perillene	-0.18 ± 0.05
18.11	水杨酸甲酯 Methyl salicylate	-0.22 ± 0.09

表中数据为平均值 \pm 标准差 ($n=5$)。Data in the table are means \pm SD ($n=5$).

2.2 JA 处理对桑枝挥发物中 EAD 活性组分释放速率的影响

在具有 EAD 活性的已知组分中,Z-3-己烯醇均出现在 JA 处理桑枝和对照桑枝挥发物中,虽然在 JA 处理桑枝中的释放速率为对照的 4.5 倍,但差异不显著。 γ -萜品烯、 β -水芹烯和紫苏仅存在于 JA 处

理的桑枝挥发物中,且 β -水芹烯的释放速率最大。与 Z-3-己烯醇类似,水杨酸甲酯也均出现在 JA 处理桑枝和对照桑枝的挥发物中,但 JA 处理桑枝所释放的水杨酸甲酯明显高于对照桑枝 ($P < 0.05$),为对照的 9.8 倍(表 2)。

表 2 JA 处理对桑枝挥发物中 EAD 活性组分释放速率 (ng/g DW · h) 的影响

Table 2 Effects of JA application on the emission rates (ng/g DW · h) of EAD active volatiles from *Morus alba* branches

处理 Treatment	Z-3-己烯醇 Z-3-Hexenol	γ-萜品烯 γ-Terpinene	β-水芹烯 β-Phallandrene	紫苏烯 Perillene	水杨酸甲酯 Methyl salicylate
水 Water (CK)	0.02 ± 0.01	ND	ND	ND	0.13 ± 0.05 a
茉莉酸 JA (1 000 μmol/L)	0.09 ± 0.05	1.87 ± 0.61	7.26 ± 2.36	5.52 ± 0.83	1.28 ± 0.08 b

ND: 没有检测到 Not detectable. 表中数据为平均值 ± 标准差 (3 次重复), 同一列数据后不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$, t 检验). Data in the table are means ± SD (3 replicates). Different letters following the data in the same column indicate significant difference statistically ($P < 0.05$, t -test).

2.3 桑天牛卵啮小蜂对标准化化合物的嗅觉反应

由图 2 可以看出,与对照相比,不同浓度的 Z-3-己烯醇和 γ-萜品烯对桑天牛卵啮小蜂均未表现出明显的引诱作用 (Z-3-己烯醇: 0.001%, $\chi^2 = 0.125$; 0.01%, $\chi^2 = 0.676$; 0.1%, $\chi^2 = 1.2$; γ-萜品烯: 0.001%, $\chi^2 = 2.381$; 0.01%, $\chi^2 = 1.059$; 0.1%, $\chi^2 = 1.684$)。较低浓度 (0.001% 和 0.01%) 的 β-水芹烯和紫苏烯对该寄生蜂无引诱活性 (β-水芹烯: 0.001%, $\chi^2 = 0.714$; 0.01%, $\chi^2 = 3.333$; 紫苏烯: 0.001%, $\chi^2 = 0.051$; 0.01%, $\chi^2 = 3.333$),

仅当浓度为 0.1% 时,这 2 种化合物对该寄生蜂的引诱作用达到了显著水平 (β-水芹烯, $\chi^2 = 6.428$; 紫苏烯, $\chi^2 = 6.125$)。随着浓度的升高,紫苏烯对该寄生蜂的引诱百分率表现出逐渐增大的趋势。0.001% 的水杨酸甲酯对该寄生蜂的引诱百分率为 67.74%,明显高于对照 ($\chi^2 = 3.903$);0.01% 的水杨酸甲酯对该寄生蜂的引诱率进一步增强,达到 69.44%,与对照差异显著 ($\chi^2 = 5.444$);当浓度提高至 0.1% 时,引诱作用消失 ($\chi^2 = 0.133$)。

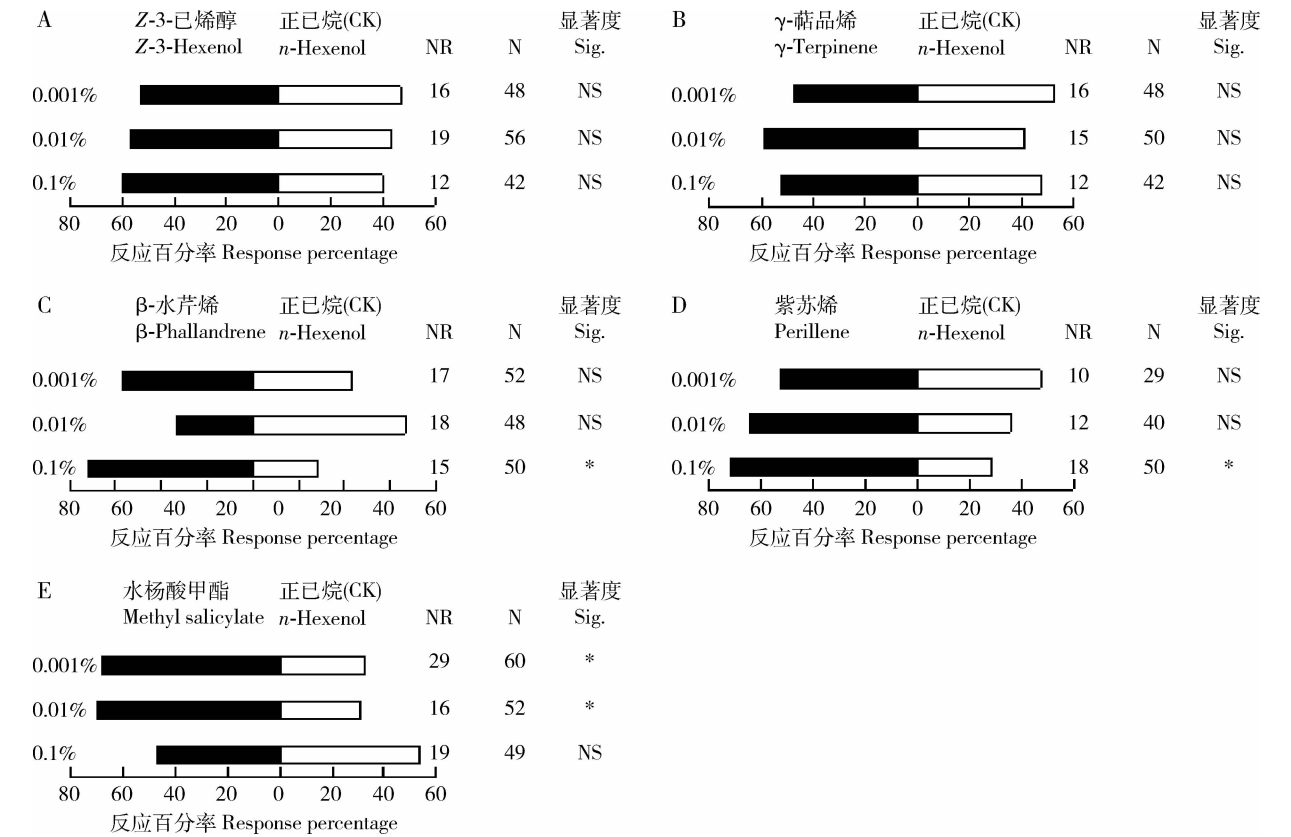


图 2 桑天牛卵啮小蜂雌蜂对不同浓度标准化化合物的嗅觉反应

Fig. 2 Olfactory responses of female wasps of *Aprostocetus prolixus* to different concentrations of commercially synthetic standards

NR: 无反应头数 Number of parasitoids with no response; N: 总头数 Total number of parasitoids. NS: 刺激样品与对照间差异不显著 ($P > 0.05$, χ^2 检验) No significant difference between the volatile and the control ($P > 0.05$, χ^2 -test); *: 刺激样品与对照间差异显著 ($P < 0.05$, χ^2 检验) Significant difference between the volatile and the control ($P < 0.05$, χ^2 -test).

3 讨论

桑天牛卵啮小蜂对桑枝挥发物中 3 种未知化合物产生 EAD 反应(图 1),经分析发现,这 3 种未知化合物在 GC-EAD 分析中的保留时间分别为 4.39, 4.81 和 5.04 min(表 1)。在 GC/MS 分析时,为了避免溶剂(二氯甲烷)对质谱离子源灯丝的损坏,溶剂延迟 3 min 后采集数据,因质谱内为真空状态,被分析的化合物在 GC/MS 毛细管柱中的流速要高于在 GC-EAD 中的流速,保留时间提前了近 2 min。因此,这 3 种物质的数据没有被质谱采集到,无法对其进行定性定量分析。

研究表明,寄生蜂通过感知寄主植物释放的挥发性组分搜寻其寄主昆虫(Ngumbi *et al.*, 2009; Wei *et al.*, 2011; Benelli *et al.*, 2013)。然而,寄生蜂的嗅觉仅能感知植物所释放的部分组分,而非全部组分。例如,棉花受烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 危害后所释放的 30 种挥发物中,盘绒茧蜂 *Cotesia marginiventris* 触角只能感受到 16 种组分(Ngumbi *et al.*, 2009)。被南美斑潜蝇 *Liriomyza huidobrensis* 幼虫危害后,菜豆 *Phaseolus vulgaris* 释放出 25 种化合物,离潜蝇茧蜂 *Opius dissitus* 仅对其中的 9 种物质产生 EAD 反应(Wei *et al.*, 2006; Wei and Kang, 2006)。与之类似,在 JA 处理后的桑枝所释放的 22 种挥发物中(王薇等, 2016),本研究发现桑天牛卵啮小蜂的触角仅能感知其中的 8 种组分(图 1; 表 1)。

本研究发现,虽然未知化合物 1、未知化合物 2 和水杨酸甲酯的释放量很低,但桑天牛卵啮小蜂对这 3 种物质的 EAD 反应强度最高(图 1; 表 1)。笔者前期研究结果显示,JA 处理后的桑枝对 Z- β -罗勒烯的释放量最高,其释放速率达 330.17 ng/g DW · h,为总释放速率的 77.8% (王薇等, 2016),然而本研究并未发现桑天牛卵啮小蜂对该组分产生明显的 EAD 反应(图 1; 表 1 和 2)。与之类似,大螟盘绒茧蜂 *Cotesia sesamiae* 对斑禾草螟 *Chilo partellus* 危害的玉米所释放的微量癸醛的 EAD 反应强度最大(Tamiru *et al.*, 2015)。以上现象表明,寄生蜂的 EAD 反应强度与挥发性组分的释放量无明显相关性,这可能是由于寄生蜂触角对不同组分的敏感程度存在差异所致。

众多文献报道,长链烷烃作为信息物质对寄生蜂的行为具有调控作用,主要涉及以下几个方面:

(1)作为产卵刺激剂促进寄生蜂产卵寄生(Lewis *et al.*, 1972);(2)作为引诱物质在寄生蜂的寄主定向搜寻方面起作用(Kroiss *et al.*, 2008);(3)作为寄主标记信息素(host marking pheromone)被寄生蜂用于标记已被寄生的寄主,避免出现重复寄生现象,如仓蛾姬蜂 *Venturia canescens* 的标记信息素为二十一烷(Mudd *et al.*, 1982);(4)作为性信息素在寄生蜂寻找配偶过程中起化学通讯作用(Kühbandner *et al.*, 2013)。本研究中,桑天牛卵啮小蜂对正辛烷(内标化合物)也表现出较弱的 EAD 反应(图 1; 表 1),表明该寄生蜂触角能够感知这种化合物。然而,未见正辛烷对寄生蜂行为影响的报道。

研究显示,JA 能通过诱导植物释放挥发性物质,增强植物对天敌昆虫的引诱作用(Burinsma *et al.*, 2009)。JA 处理后的番茄 *Lycopersicon esculentum* cv Castlemart 大量释放对智利小植绥螨 *Phytoseiulus persimilis* 具有引诱活性的萜类化合物 E- β -罗勒烯、里那醇、E-橙花叔醇和 4,8,12-三甲基-1,3,7,11-十三碳-四烯(Ament *et al.*, 2004)。JA 还能通过促进番茄 *Lycopersicon esculentum* 对水杨酸甲酯的合成与释放(Ament *et al.*, 2004),提高植株对捕食螨 *Phytoseiulus persimilis* 的引诱能力(Boer and Dicke, 2005)。本研究发现,经 JA 处理后,桑枝大量释放对桑天牛卵啮小蜂具有引诱活性的 β -水芹烯、紫苏烯和水杨酸甲酯(表 2; 图 2),这可能是 JA 诱导桑枝对桑天牛产生间接抗虫作用的重要机制。

本研究中, β -水芹烯和紫苏烯对桑天牛卵啮小蜂产生引诱作用的浓度均为 0.1%,而水杨酸甲酯的有效浓度为 2 个,即 0.01% 和 0.001%。与之类似,水杨酸甲酯对捕食螨 *Typhlodromus pyri* 具有引诱作用的剂量有 3 个,即 20, 0.2 和 0.02 μg (Gadino *et al.*, 2012)。以上现象表明,植物所释放的某些组分在不同剂量时均可为天敌昆虫提供寄主信息。

在植物-昆虫-天敌三个营养级关系中,与来自寄主植物的某种单一组分相比,多种组分的混合物能为天敌昆虫提供更多的寄主信息。因此,多组分的混合物对天敌昆虫具有更大的引诱作用。例如,蚕豆 *Vicia faba* var. Nintoku Issun 释放的 6 种组分(正壬醛、 α -水芹烯、 γ -萜品烯、 β -月桂烯、E- β -罗勒烯和 R-里那醇)分别被稀释成浓度为 0.01 ng/ μL 的正己烷溶液后,经生测发现,每种溶液对无网长管蚜茧蜂 *Aphidius ervi* 均无引诱活性,但这 6 种组分的混合液(每种组分的浓度均为 0.01 ng/ μL)对该寄

生蜂却产生显著的引诱作用 (Takemoto and Takabayashi, 2015)。本研究中, γ -萜品烯和 Z-3-己烯醇对桑天牛卵啮小蜂具有 EAD 活性 (图 1), 表明寄生蜂触角能够感知这 2 种化合物, 然而它们对寄生蜂并没有表现出引诱活性 (图 2), 可能是这 2 种组分单独使用时不足以为桑天牛卵啮小蜂提供寄主的相关信息, 与其他组分混合后是否能提高其引诱作用, 尚未可知。因此, 这些 EAD 活性组分混配后对桑天牛卵啮小蜂的引诱效果有待于进一步研究。

参考文献 (References)

- Ament K, Kant MR, Sabelis MW, Haring MA, Schuurink RC, 2004. Jasmonic acid is a key regulator of spider mite-induced volatile terpenoid and methyl salicylate emission in tomato. *Plant Physiol.*, 135(4): 2025–2037.
- Benelli G, Revadi S, Carpita A, Giunti G, Raspi A, Anfora G, Canale A, 2013. Behavioral and electrophysiological responses of the parasitic wasp *Psytalia concolor* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae) to *Ceratitis capitata*-induced fruit volatiles. *Biol. Control*, 64: 116–124.
- Boer JG, Dicke M, 2005. Information use by the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae), a specialised natural enemy of herbivorous spider mites. *Appl. Entomol. Zool.*, 40(1): 1–12.
- Bruinsma M, Posthumus MA, Mumm R, Mueller MJ, van Loon JJA, Dicke M, 2009. Jasmonic acid-induced volatiles of *Brassica oleracea* attract parasitoids; effects of time and dose, and comparison with induction by herbivores. *J. Exp. Bot.*, 60(9): 2575–2587.
- Feng HC, Li JQ, Bu ZG, Wen YJ, Wang Y, Jin YJ, Guo ZL, 2009. Effects of *Apriona germari* feeding infestation and exogenous jasmonic acid on induced defensive response of *Morus* L. *Sci. Seric.*, 35(2): 223–228. [冯会藏, 李继泉, 卜志国, 温艳菊, 王宇, 金幼菊, 郭子良, 2009. 桑天牛危害和外源茉莉酸诱导桑树防御反应的研究. 蚕业科学, 35(2): 223–228]
- Gadino AN, Walton VM, Lee JC, 2012. Olfactory response of *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) to synthetic methyl salicylate in laboratory bioassays. *J. Appl. Entomol.*, 136: 476–480.
- Huang DZ, Yan JJ, Wang ZG, Li HP, Li JQ, 2015. Study of *Apriona germari*. Science Press, Beijing. 9–10. [黄大庄, 严俊杰, 王志刚, 李会平, 李继泉, 2015. 桑天牛研究. 北京: 科学出版社. 9–10]
- Kroiss J, Bordon S, Strohm E, 2008. Hydrocarbons in the nest material of a solitary digger wasp represent a kairomone for a specialized cuckoo wasp. *Anim. Behav.*, 76(5): 1555–1563.
- Kühbandner S, Bello JE, Mori K, Millar JG, Ruther J, 2013. Elucidating structure-bioactivity relationships of methyl-branched alkanes in the contact sex pheromone of the parasitic wasp *Lariophagus distinguendus*. *Insects*, 4(4): 743–760.
- Lewis WJ, Jones RL, Sparks AN, 1972. A host-seeking stimulant for the egg parasite *Trichogramma evanescens*: its source and a demonstration of its laboratory and field activity. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 65(5): 1087–1089.
- Li JQ, Wang SX, Yang Y, Huang DZ, Jin YJ, Bai Y, 2006. The study on oviposition, host recognition and discrimination behavior of *Aprostocetus fukutai* (Miwa et Sonan). *Sci. Seric.*, 32(4): 447–452. [李继泉, 王树香, 杨元, 黄大庄, 金幼菊, 白颖, 2006. 桑天牛长尾啮小蜂产卵及寄主识别行为的观察与研究. 蚕业科学, 32(4): 447–452]
- Li JQ, Yang Y, Wang SX, Feng HC, Huang DZ, Jin YJ, 2007a. Host selection and location behavior of *Aprostocetus prolixus* LaSalle et Huang (Hymenoptera: Eulophidae), an egg parasitoid of *Apriona germari* (Hopt) (Coleoptera: Cerambycidae). *Acta Entomol. Sin.*, 50(11): 1122–1128. [李继泉, 杨元, 王树香, 冯会藏, 黄大庄, 金幼菊, 2007a. 桑天牛卵长尾啮小蜂的寄主选择定位行为. 昆虫学报, 50(11): 1122–1128]
- Li JQ, Zhang FJ, Yang Y, Feng HC, Bai Y, Wang Y, 2007b. Electroantennographic and olfactory responses of *Aprostocetus fukutai* to the volatiles from mulberry branch. *Sci. Seric.*, 33(4): 543–548. [李继泉, 张凤娟, 杨元, 冯会藏, 白颖, 王宇, 2007b. 桑天牛长尾啮小蜂对桑枝挥发物的触角电位和嗅觉反应. 蚕业科学, 33(4): 543–548]
- Mudd A, Fisher RC, Smith MC, 1982. Volatile hydrocarbons in the Dufour's gland of the parasite *Nemeritis canescens* (Grav.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Chem. Ecol.*, 8: 1035–1042.
- Ngumbi E, Chen L, Fadamiro HY, 2009. Comparative GC-EAD responses of a specialist (*Microplitis croceipes*) and a generalist (*Cotesia marginiventris*) parasitoid to cotton volatiles induced by two caterpillar species. *J. Chem. Ecol.*, 35: 1009–1020.
- Shiojiri K, Ozawa R, Matsui K, Kishimoto K, Kugimiya S, Takabayashi J, 2006. Role of the lipoxygenase/lyase pathway of host-food plants in the host searching behavior of two parasitoid species, *Cotesia glomerata* and *Cotesia plutellae*. *J. Chem. Ecol.*, 32(5): 969–979.
- Singh A, Singh S, Singh IK, 2016. Recent insights into the molecular mechanism of jasmonate signaling during insect-plant interaction. *Aust. Plant Pathol.*, 45(2): 123–133.
- Smid HM, van Loon JJA, Posthumus MA, Vet LEM, 2002. GC-EAG-analysis of volatiles from brussels sprouts plants damaged by two species of *Pieris* caterpillars: olfactory receptive range of a specialist and a generalist parasitoid wasp species. *Chemoecology*, 12(4): 169–176.
- Takemoto H, Takabayashi J, 2015. Parasitic wasps *Aphidius ervi* are more attracted to a blend of host-induced plant volatiles than to the independent compounds. *J. Chem. Ecol.*, 41: 801–807.
- Tamiru A, Bruce TJA, Woodcock CM, Birkett MA, Midega CAO, Pickett JA, Khan ZR, 2015. Chemical cues modulating electrophysiological and behavioural responses in the parasitic wasp *Cotesia sesamiae*. *Can. J. Zool.*, 93: 281–287.
- Wang W, Li JQ, Wang SX, Zhang J, Dong X, Tang Z, Tian HY, 2016. Attractiveness of jasmonic acid-treated *Morus alba* branches to

Aprostocetus prolixus (Hymenoptera: Eulophidae) and analysis of their volatile compounds. *Acta Entomol. Sin.*, 59(9): 997–1003.
[王薇, 李继泉, 王树香, 张静, 董欣, 唐哲, 田红雨, 2016. 茉莉酸诱导桑枝对桑天牛卵啮小蜂的引诱作用及桑枝挥发物组分分析. 昆虫学报, 59(9): 997–1003]

Wei J, Wang L, Zhao J, Li C, Ge F, Kang L, 2011. Ecological trade-offs between jasmonic acid-dependent direct and indirect plant

defences in tritrophic interactions. *New Phytol.*, 189: 557–567.
Wei JN, Kang L, 2006. Electrophysiological and behavioral responses of a parasitic wasp to plant volatiles induced by two leaf miner species. *Chem. Senses*, 31(5): 467–477.
Wei JN, Zhu J, Kang L, 2006. Volatiles released from bean plants in response to agromyzid flies. *Planta*, 224(2): 279–287.

(责任编辑: 赵利辉)